

Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium sp.* inoculadas em consórcio e individual em Feijão-caupi⁽¹⁾.

Sumaya Mário Nosoline⁽²⁾; Fernanda Santana de Paulo⁽³⁾; Elson Barbosa Silva Júnior⁽⁴⁾; Norma Gouvêa Rumjanek⁽⁵⁾; Gustavo Ribeiro Xavier⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CNPq-CAPES.

⁽²⁾ Doutoranda em Produção vegetal; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Campos dos Goytacazes; RJ; sumaya.nosoline@gmail.com; ⁽³⁾ Doutoranda em Agronomia-Ciência do solo; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; nandasibila@yahoo.com.br; ⁽⁴⁾ Doutorando em Agronomia-Ciência do solo; UFRRJ; elsonmais@bol.com.br; ⁽⁵⁾ Pesquisador; Embrapa Agrobiologia; norma@cnpab.embrapa.br, gustavo@cnpab.embrapa.br.

RESUMO: A simbiose com bactérias diazotróficas eficientes representa um incremento significativo no desenvolvimento e produtividade do feijão-caupi. Objetivou-se avaliar a resposta no desenvolvimento, produção de biomassa vegetal e grãos de feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium sp.*, em condições de campo. Foram testadas as estirpes BR3267, BR3262, INPA 03-11B, UFLA 3-84 e BR3299 de forma individual e em consórcio, um controle absoluto e um tratamento nitrogenado (50 kg ha⁻¹ de N). As variáveis massa seca de nódulos, massa da parte aérea seca e nitrogênio acumulado na parte aérea foram determinadas aos 35 dias após a emergência (DAE); massa e nitrogênio acumulado da parte aérea seca e produtividade de vagens verdes aos 60 DAE e produtividade de grãos secos aos 75 DAE. As estirpes proporcionaram maior massa de nódulos secos em comparação ao tratamento nitrogenado. Para massa da parte aérea seca, aos 35 DAE, o tratamento nitrogenado apresentou um incremento de 28%, 30%, 40% e 46% em relação aos tratamentos BR3267, controle absoluto, BR3262 e consórcio. Já na coleta aos 60 DAE não foi observado efeito significativo entre os tratamentos. As médias gerais de produtividade foram de 5407 kg ha⁻¹ e 1068 kg ha⁻¹ para vagens verdes e grãos secos, respectivamente. As estirpes inoculadas, de modo geral, proporcionam boa nodulação, rendimento de biomassa seca, acúmulo de N na parte aérea, e produção de grãos quando comparadas ao controle absoluto e controle nitrogenado.

Termos de indexação: inoculação, FBN, adubação nitrogenada.

INTRODUÇÃO

Leguminosa originária do continente africano, o feijão-caupi é cultivado em todas as regiões brasileiras, caracterizando-se como fonte de proteína e ferro. Além da importância alimentar, o feijão-caupi tem alto potencial para adubação verde, produzindo elevada quantidade de biomassa, o que

contribui com um aporte de nitrogênio de até 90 kg N ha⁻¹, (Castro et al., 2004). Isso se dá devido à capacidade de simbiose com bactérias diazotróficas eficientes, o que além de possibilitar a adaptação a solos de baixa fertilidade, representa um incremento significativo na taxa de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e produtividade da cultura, reduzindo também o uso de fertilizantes nitrogenados (Franco et al., 2002; Zilli et al., 2009).

A inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium sp.* é bastante difundida no país e possibilita atingir níveis altos de produtividade da cultura. Apesar disso, tem-se observado uma demanda de consumo maior que a produção nacional, sendo necessário a expansão das áreas produtoras e desenvolvimento de novas tecnologias que maximizem a produtividade das cultivares utilizadas (Freire Filho et al., 2005; Filgueiras et al., 2009).

O consórcio (inoculação mista) de estirpes apresenta-se como uma alternativa tecnológica promissora no processo de FBN, uma vez que as características distintas de cada uma poderá aumentar a probabilidade de ocupação dos sítios de nodulação da planta, em detrimento dos rizóbios nativos do solo, aumentando a eficiência da inoculação e promovendo o melhor desenvolvimento do vegetal a eles associados (Silva Júnior et al., 2010). Nesse contexto, o presente estudo objetivou avaliar a resposta no desenvolvimento, produção de biomassa vegetal e grãos de feijão caupi à inoculação (individual e em consórcio) com as estirpes *Bradyrhizobium sp.*, em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Um ensaio foi conduzido numa área do Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia (Terraço) em Seropédica, RJ. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições. A parcela experimental correspondeu a 24 m², com oito fileiras de 6m de comprimento, tendo como área útil as seis

fileiras centrais. Os tratamentos utilizados foram: inoculações com as estirpes BR3262 e BR3267 de forma individual, consórcio entre estirpes (BR3267, BR3262, INPA 03-11B, UFLA 3-84 e BR3299), mais dois controles, sendo um com adubação nitrogenada (50 kg ha^{-1} de N no plantio) e uma testemunha absoluta (sem adubação nitrogenada e sem inoculação).

Os inoculantes foram preparados por meio do cultivo das estirpes, obtidas a partir da coleção de cultura diazotróficas da Embrapa Agrobiologia, em meio de cultura YMA líquido (Fred & Waksman, 1928) e incubadas a 28°C sob agitação de 150 rpm e de acordo com o tempo de crescimento de cada uma. Posteriormente, realizou-se a pré-inoculação da suspensão bacteriana na mistura de base polimérica IPC 2.2, a base de carboxymethyl cellulose (CMC) e amido (Fernandes Júnior et al., 2009). Cada estirpe foi misturada na fase logarítmica final de crescimento, numa proporção 1:3, uma parte de suspensão bacteriana para três da mistura polimérica, apresentando densidade de células do inoculante $1,0 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de inoculante.

As sementes de feijão-caupi (cultivar Mauá) foram inoculadas um dia antes do plantio, sendo utilizada a dosagem de 100 g de inoculante para 15 kg de semente (1:15). O plantio consistiu na distribuição manual das mesmas no espaçamento de 0,5 m entre linhas.

Foram realizadas três coletas, aos 35, 60 e 75 dias após a emergência (DAE). Na primeira, avaliou-se a massa de nódulos secos (MNS), a massa da parte aérea seca (MPAS) e o teor de nitrogênio (N) da parte aérea. Na segunda, as variáveis analisadas foram: produtividade de vagens verdes (60 a 70% de umidade) e acúmulo de N na parte aérea. Na terceira coleta: a produtividade de grãos secos, com umidade corrigida para 13%. A amostragem na primeira coleta consistiu na coleta de cinco plantas na segunda linha de plantio em cada parcela, enquanto que na segunda e terceira coletas cada parcela foi dividida em duas áreas úteis de 4 m^2 , sendo a coleta de vagens verdes na primeira área útil e a de grãos secos na segunda.

Os nódulos e a parte aérea provenientes das duas coletas foram secos em estufa (60°C por 72 horas) para determinação da massa de nódulos e matéria seca. A parte aérea das plantas foi moída para a determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (Nogueira & Souza 2005).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância conforme o delineamento descrito e as médias comparadas pelo teste de LSD, a 5% de probabilidade, utilizando-se o Sisvar, versão 4.0 (Ferreira, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estirpes inoculadas não induziram, aos 35 DAE, uma maior massa de nódulos secos em feijão-caupi quando comparadas ao controle não inoculado (**Tabela 1**). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos inoculados.

A considerável nodulação apresentada pela testemunha absoluta além de indicar a alta capacidade de rizóbios estabelecidos no solo de nodularem plantas de feijão-caupi, reforça a ideia da promiscuidade observada na cultura, capaz de ser nodulada facilmente pelos rizóbios presente no solo (Rumjanek et al., 2005).

O teste de média mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos inoculados e o controle nitrogenado (50 kg ha^{-1} de N), apresentando, este último, menor valor de massa de nódulos secos (**Tabela 1**). A baixa nodulação observada nesse tratamento evidencia o papel inibidor do N-mineral sobre a nodulação das leguminosas, que ocorre em resposta às demandas nutricionais da planta. Na presença de N-mineral, tais demandas são reduzidas, não havendo, portanto, estímulo à nodulação (Moreira & Siqueira, 2006).

Na variável massa da parte aérea seca, aos 35 DAE, o tratamento nitrogenado apresentou um incremento de 28%, 30%, 40% e 46% em relação aos tratamentos BR3267, controle absoluto, BR3262 e consórcio (**Tabela 1**). Já para o acúmulo de N, o tratamento consórcio apresentou menor N total acumulado na parte aérea seca, devido à menor produção de biomassa seca observada nesta cultivar. A massa da parte aérea seca e teor de N acumulado, em geral, são muito importantes para medir a eficiência do uso de feijão-caupi na adubação verde. De acordo com Guedes (2008), o feijão-caupi se presta à adubação verde por possuir alta capacidade de cobertura do solo e por produzir considerável quantidade de biomassa com alto potencial de FBN.

Na coleta aos 60 DAE não se observou efeito significativo ($p > 0,05$) entre os tratamentos para massa da parte aérea seca e acúmulo de N na parte aérea. Nesta, todas as estirpes foram semelhantes entre si e similares ao tratamento com 50 kg ha^{-1} de N. (**Tabela 2**). De acordo com Vieira et al. (2010) isso mostra que o nitrogênio proveniente da simbiose foi suficiente para prover as necessidades da planta, podendo o efeito ser dependente da estirpe de rizóbio introduzida, fato que mostra que a associação com bactérias pode suprir grande parte

do nitrogênio necessário ao desenvolvimento e produtividade do feijão-caupi.

A produtividade de vagens verdes teve como média geral 5407 kg ha⁻¹ (**Tabela 3**). O tratamento nitrogenado proporcionou maior produtividade de vagens verdes, seguida pela inoculação com a estirpe BR 3267. Guedes (2008) avaliando a produtividade de vagens verdes da cultivar Mauá, nos diferentes tipos de consórcio com o milho e monocultivo sob manejo orgânico em Seropédica-RJ, obteve médias entorno de 1500 a 2000 kg ha⁻¹, inferiores às observadas neste estudo. As médias acima de 5000 kg ha⁻¹, inclusive para o controle absoluto, são consideradas boas o que indica que a FBN foi importante nos tratamentos isentos de nitrogênio mineral.

Em relação à produção de grãos secos (**Tabela 3**), o tratamento nitrogenado também proporcionou maior produtividade, observando-se incrementos em torno de 24%, 28%, 34% e 69% em comparação aos tratamentos consórcio, inoculação com a estirpe BR3267, controle absoluto e inoculação com a estirpe BR 3262, respectivamente. Apesar disso, considerando o baixo custo da inoculação ainda sim compensa ao produtor rural lançar mão da prática da inoculação.

CONCLUSÕES

As estirpes inoculadas, de modo geral, proporcionam boa nodulação, rendimento de biomassa seca, acúmulo de N na parte aérea, e produção de grãos quando comparadas ao controle absoluto e controle nitrogenado.

O consórcio entre estirpes apresentou respostas similares às inoculações individuais nas variáveis analisadas.

AGRADECIMENTOS

À UFRRJ-CPGA-CS, Capes e Embrapa Agrobiologia.

REFERÊNCIAS

CASTRO, C. M.; ALVES, B. J. R.; ALMEIDA, D. L. et al. Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da berinjela em sistema orgânico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39:779-785, 2004.

FERNANDES JÚNIOR, P. I.; ROHR, T. G.; OLIVEIRA, P. J. et al. Polymers as carriers for rhizobial inoculant formulations. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44:1184-1190, 2009.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*, 6:36- 41, 2008.

FILGUEIRAS, G. C.; SANTOS, M. A. S dos; HOMMA, A. K. O. et al. Aspectos socioeconômicos. In: ZILLI, J. E.; VILARINHO, A. A.; ALVES, J. M. A. ed. *A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira*. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009. p.23-58.

FRANCO, M. C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R. et al. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37:1145-1150, 2002.

FRED, E. B. & WAKSMAN, S. *Yeast extract-mannitol agar for laboratory manual of general microbiology*. New York: McGraw Hill, 1928. 145p.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D. et al. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. ed. *Feijão-Caupi – Avanços tecnológicos*. Brasília: Embrapa-informação Tecnológica, 2005. p.29-92.

GUEDES, R. E. Bases para o Cultivo Orgânico de Feijão-Caupi [*Vigna unguiculata* L. (Walp.)] no Estado do Rio de Janeiro. Seropédica. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2008. 93p. (Tese de Doutorado).

MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 729p.

NOGUEIRA, A. R. de A. & SOUZA, G. B. *Manual de laboratórios: Solo, água, Nutrição Animal e Alimentos*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313p.

RUMJANEK, N. G.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R. et al. Fixação biológica de nitrogênio. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. ed. *Feijão caupi: avanços tecnológicos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 280-335.

SILVA JÚNIOR, E. B.; ALENCAR, C. A.; FERNANDES JÚNIOR, P. I. et al. Avaliação do consórcio de estirpes para inoculação em feijão-caupi. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 29., Guarapari, 2010. Anais. Guarapari: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2011. P. 207-208.

VIEIRA, C. L.; FREITAS, A. D.; SILVA, A. F. et al. Inoculação de variedades locais de feijão macassar com estirpes selecionadas de rizóbio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14:1170-1175, 2010.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F. et al. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. *Acta Amazonica*, 39:749-758, 2009.

Tabela 1 – Massa de nódulos seca, massa da parte aérea seca e nitrogênio total acumulado na parte aérea de feijão caupi (cultivar Mauá) aos 35 dias após a emergência (DAE), sob diferentes fontes de N⁽¹⁾.

Fontes de N	Massa seca de nódulos (mg planta ⁻¹)	Matéria seca da parte aérea (g)	Nitrogênio total acumulado (mg.planta ⁻¹)
BR 3267	0,2425 ab	7,7075 ab	299,2325
BR 3262	0,1975 ab	6,3825 b	247,4500
Consórcio	0,2400 ab	5,7325 b	199,7825
Controle (S/l)	0,2675 a	7,5125 ab	298,1575
Nitrogênio	0,1475 b	10,6600 a	374,2175
Média	0,2190	7,5990	283,7680
CV (%)	29,30	34,92	34,69

⁽¹⁾ Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste LSD.

Tabela 2 – Massa da parte aérea seca e nitrogênio total acumulado na parte aérea de feijão caupi (cultivar Mauá) aos 60 dias após a emergência (DAE), sob diferentes fontes de N⁽¹⁾.

Fontes de N	Matéria seca da parte aérea (g)	Nitrogênio total acumulado (mg.planta ⁻¹)
BR 3267	9,4700	213,9950
BR 3262	8,2550	171,0325
Consórcio	7,9400	170,1825
Controle (S/l)	7,0500	154,7725
Nitrogênio	7,6475	162,9600
Média	8,0725	174,5885
CV (%)	45,23	44,49

⁽¹⁾ Não houve diferença entre os tratamentos pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Produtividade de vagens verdes, e produtividade de grãos secos de feijão-caupi (cultivar Mauá) , sob diferentes fontes de N⁽¹⁾.

Fontes de N	Produtividade de vagens verdes (kg ha ⁻¹)	Produtividade Grãos Secos (kg ha ⁻¹)
BR 3267	5600,4375 ab	989,1775 b
BR 3262	5064,8750 b	817,5075 b
Consórcio	4695,7500 b	1113,9500 ab
Controle (S/l)	4820,8125 b	1033,9650 b
Nitrogênio	6853,1250 a	1388,1450 a
Média	5407,00	1068,5490
CV (%)	20,78	20,35

⁽¹⁾ Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste LSD.